

Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNÉE SCOLAIRE 1903-1904. — N° 1

RECHERCHES
SUR LA
CONTAMINATION DES EAUX

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le Samedi 7 novembre 1903

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Henri-Eugène CAUSSE

Né à Decazeville (Aveyron), le 15 avril 1858

Docteur ès-sciences, pharmacien supérieur



LYON

A. STORCK & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS

8, rue de la Méditerranée, 8

—
1903

Faculté de Médecine et de Pharmacie

ANNÉE SCOLAIRE 1903-1904. — N° 1

RECHERCHES
SUR LA
CONTAMINATION DES EAUX

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le Samedi 7 novembre 1903

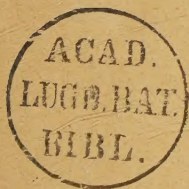
POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Henri-Eugène CAUSSE

Né à Decazeville (Aveyron), le 15 avril 1858

Docteur ès-sciences, pharmacien supérieur



LYON

A. STORCK & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS

8, rue de la Méditerranée, 8

—
1903

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET DOYEN.
LACASSAGNE ASSESSEUR.

Professeurs honoraires

MM. PAULET, CHAUVEAU.

Professeurs

	MM.
Cliniques médicales	{ LÉPINE. BONDET. BARD. PONCET. JABOULAY.
Cliniques chirurgicales	X.
Clinique obstétricale et Accouchements	GAYET.
Clinique ophtalmologique	GAILLETON.
Cliniques des maladies cutanées et syphilitiques	PIERRET.
Clinique des maladies mentales	WEILL.
Clinique des maladies des enfants	MONOYER.
Physique médicale	HUGOUNENQ.
Chimie médicale et pharmaceutique	CAZENEUVE.
Chimie organique et Toxicologie	BEAUVISAGE.
Matière médicale et Botanique	LORTET.
Parasitologie	TESTUT.
Anatomie	RENAUT.
Anatomie générale et Histologie	MORAT.
Physiologie	TEISSIER.
Pathologie interne	AUGAGNEUR.
Pathologie externe	MAYET.
Pathologie et Thérapeutique générales	TRIPPIER.
Anatomie pathologique	POLLOSSON (Maurice).
Médecine opératoire	ARLOING.
Médecine expérimentale et comparée	LACASSAGNE.
Médecine légale	COURMONT (J.).
Hygiène	SOULIER.
Thérapeutique	FLORENCE.
Pharmacologie	

Professeur adjoint

Physiologie, cours complémentaire DOYON.

Chargés de cours complémentaires

Clinique des maladies des femmes	MM. POLLOSSON (A.), agrégé.
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX, —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	LANNOIS, —
Propédeutique médicale	ROQUE, —
Propédeutique chirurgicale	ROLLET, —
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN, —
Anatomie pathologique	DEVIC, —
Accouchements	FABRE, —
Matière médicale	MOREAU —

Agrégés

MM.	MM.	MM.	MM.
ROUX	SIRAUD	BÉRARD	VILLARD
COLLET	DURAND	SAMBUC	TIXIER
BOYER	PIC	BORDIER	FABRE
BARRAL	PAVIOT	COURMONT (P.)	REGAUD
MOREAU	NOVE-JOSSERAND	CHATIN	CAUSSE, ch...
VALLAS			

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. LÉPINE, président ; FLORENCE, assesseur ;
MM. ROUX et SAMBUC, agrégés.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

INTRODUCTION

La forme primitive de l'eau est la pluie ; dans sa chute à travers l'atmosphère, elle dissout les gaz qui composent l'air respirable ; arrivée à la surface du sol elle subit trois destinées différentes.

Une partie retourne à l'atmosphère par évaporation, une autre chemine à la surface du sol, gagne le cours d'eau voisin, puis la mer; la troisième pénètre dans les profondeurs de la terre, jusqu'à ce qu'elle rencontre une couche imperméable, où elle s'accumule, engendre une nappe souterraine, et de là, par un chemin détourné, vient sourdre à la surface et constitue une source. La première forme intéresse peu l'hydrologie, mais il n'en est plus de même des deux autres, surtout de la seconde, dont nous nous occuperons particulièrement.

Dans son trajet à la surface du sol, avant d'avoir rejoint le cours d'eau, l'eau a été en contact avec toute sorte de détritits, représentés par les déjections humaines et animales, les déchets et les résidus de la vie ; malgré ces conditions défavorables elle joue un grand rôle dans l'alimentation des populations en eaux potables.

L'eau ainsi chargée des matières organiques qu'elle a rencontrées sur sa route, arrive dans la rivière, elle roule en même temps du limon, essentiellement représenté par de l'argile ou silicate d'alumine.

Dès qu'elle est en présence des sels calcaires et magnésiens contenus dans l'eau, un échange se produit. Le silicate forme des combinaisons terreuses insolubles, qui se déposent, entraînent les substances en suspension. Le tout se réunit au fond, constituant un amas plus ou moins volumineux désigné sous le nom de vase ; tandis que l'eau qui le surnage s'est éclaircie, mais retient en solution la partie soluble des matières organiques.

Dans la vase la matière organique représentée par des graisses, des substances albuminoïdes et des hydrates de carbone, est en presque totalité absorbée par les végétations aquatiques, ou bien subit des fermentations anaérobies diverses, qui se manifestent par des dégagements gazeux.

La matière albuminoïde attaquée par les enzymes et les bactéries, est scindée en composés, dont la connaissance nous ramènera aux phénomènes de la digestion intestinale des matières albuminoïdes.

Bien que la constitution des substances protéiques nous soit inconnue et que nous ignorions le mode de groupement des cinq atomes qui composent d'ordinaire leur molécule, savoir : carbone, hydrogène, azote, oxygène, soufre, on admet généralement qu'elles représentent une amide complexe de la série grasse, greffée sur un noyau aromatique.

Sous l'influence de l'eau agissant par sa masse seule ou aidée du concours des enzymes, la matière albuminoïde est d'abord hydrolysée, le soufre se détache de la molécule, à l'état d'hydrogène sulfuré, les amides sont en partie hy-

dratées, transformées en sels ammoniacaux, puis en sels de chaux et de magnésie, avec mise en liberté d'ammoniaque.

Toutes ces substances restent en solution dans l'eau, et représentent la matière organique primitive. On s'explique ainsi la disparition rapide du composé originel, et cet autre fait que celui qui existe en solution dans l'eau n'offre plus la composition des substances albuminoïdes, comme le prouvent les recherches si précises de Frankland, basées sur l'établissement du rapport C/Az.

Le terrain est maintenant préparé, l'action de l'eau et des enzymes ayant converti la matière organique en substances solubles et assimilables, les bactéries peuvent l'envahir, elles auront à leur disposition des aliments variés, propres à assurer leur vie et leur développement ; une seule condition s'impose, c'est que la température soit favorable.

Si nous nous reportons aux indications fournies par les réactifs colorés, et en particulier à celles du violet de méthyle sulfureux, nous voyons qu'une eau de surface, même contaminée, possède la propriété de régénérer la couleur primitive pendant une période fixe qui s'étend de novembre à juin ; en été, cette propriété disparaît ; par contre l'eau gagne celle d'agir sur le paradiazobenzène, dont elle était dépourvue.

Ces faits déduits de l'observation comportent une signification très précise, ils montrent que l'eau est le siège de deux actions antagonistes, placées sous la dépendance de la température qui devient ainsi le régulateur de l'infection ou de la purification des eaux.

Cette influence de la température nous la retrouverons dans la suite à chaque pas, mais déjà, on conçoit aisément que la succession des vies bactériennes auxquelles donne-

ront lieu ses variations, aura pour conséquence d'engendrer une série variée de produits.

Cela posé, si l'on s'en tient aux effets de l'eau sur le violet sulfureux, à la composition même du réactif, on est conduit à admettre que lorsqu'elle recolore le violet, elle contient des ferments oxydants qui brûlent ou transforment les substances en solution et les ramènent à leurs formes minérales initiales, eau, acide carbonique, acide nitrique et sulfurique.

En effet, l'hydrogène sulfuré, absorbé par des bactéries aérobies, probablement du genre des sulfuraires, est rejeté à l'état d'acide sulfurique ; l'ammoniaque, par un processus semblable dû au *B. nitrificans*, est convertie en acide azotique ; enfin, le composé organique restant après le départ plus ou moins complet de l'azote et du soufre, est en partie assimilé, en partie brûlé et excrété par voie respiratoire sous forme d'acide carbonique.

Les radicaux d'acide qui ont ainsi pris naissance s'unissent à la chaux et à la magnésie, engendrent des sels correspondants qui viennent augmenter la dureté de l'eau. La teneur en sels calcaires et magnésiens, les formes dominantes, pourraient servir de base pour établir ce que l'on nomme la *contamination passée*.

La relation entre la contamination passée et la dureté s'observe dans les puits peu profonds creusés dans le calcaire, alimentés par des eaux de surface, riches en matières organiques, comme ceux que l'on trouve dans la plaine des Brotteaux et de Monplaisir à Lyon.

Il en est qui titrent jusqu'à 103° hydrotimétriques ; la moyenne est 60° ; la dureté est due à un mélange de carbonates, sulfates, nitrates de calcium et de magnésium, aux-

quels il faut ajouter les combinaisons des acides gras avec ces mêmes terres alcalines. Dans beaucoup de cas, la teneur en ammoniacque libre est nulle, et le rapport C/Az très éloigné de celui des matières albuminoïdes, soit 1/18 à 1/25.

Ces exemples ne sont pas isolés, et il est permis d'avancer que, si les conditions de terrain et de température sont favorables, l'œuvre des ferments se traduira par le retour aux formes primitives simples des composants de la molécule albuminoïde.

Envisageons maintenant le cas d'une eau qui subit des variations de température. Lorsqu'elle sera élevée, en été, par exemple, les bactéries oxydantes, débordées par des espèces nouvelles, mieux adaptées aux conditions de température, se retirent et cèdent la place ; à leur tour, celles-ci apportent avec un genre de vie différent des composés nouveaux.

Les réactifs nous indiqueront le moment où a lieu cette substitution, qui très certainement revient à la prédominance de la vie anaérobie. Le violet sulfureux n'est plus régénéré, le paradiazobenzène sulfoné accuse la présence des composés de la putréfaction, l'azote organique augmente, l'eau contient des composés sulfurés, ferreux, du phosphore organique.

L'hydrogène sulfuré rencontrant de l'ammoniacque libre engendre du sulfure d'ammonium ; par son action sur les sels de fer, toujours présents dans les eaux polluées, il formera du sulfure de fer ; par sa couleur noire, cette combinaison donnera à l'eau un aspect particulier ; en tant que sulfure peu stable, au contact de l'air il dégagera de l'hydrogène sulfuré, qui communiquera à l'eau l'odeur et la saveur repoussante de pourriture.

Ces réactions se passent constamment dans les égouts, ainsi qu'en témoigne l'odeur nauséabonde qui se dégage aux ouvertures, et la couleur de l'eau qui en sort ; elles apparaissent fréquemment dans les puits peu profonds, en été, après une période de sécheresse ; dans un cours d'eau, surtout s'il est rapide, ces phénomènes passent inaperçus, du fait de la dilution, et du mouvement continu de l'eau qui ramène à la surface, au contact de l'air, les couches profondes, et assure ainsi une oxydation plus ou moins partielle des produits de la putréfaction.

Les diverses matières organiques apportées par la contamination peuvent être rangées autour de trois types principaux, les corps gras, les hydrates de carbone et les matières albuminoïdes.

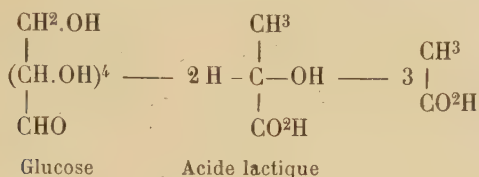
Par hydrolyse simple, les premiers sont scindés en acides gras et glycérine ; par hydrolyse suivie de fermentation, les hydrates de carbone et les substances protéiques sont ramenés à la forme d'acides à fonction simple ou mixte.

Lorsque la cellulose, par exemple, entre en fermentation en présence d'une matière albuminoïde fermentescible, l'une et l'autre subissent des décompositions de deux sortes.

Par hydratation elles sont d'abord converties en des molécules plus simples, assimilables, dans lesquelles le type primordial est conservé dans l'ensemble de ses fonctions ; les dédoublements sont l'œuvre des diastases ou enzymes ; c'est ainsi que l'amidon engendre le glucose, le sucre de lait, le galactose.

Le sucre subit ensuite des transformations variables avec les espèces microbiennes, les unes consistent en une transposition moléculaire du composé primitif ; les constituants

se groupent en un acide, c'est le cas pour le glucose qui est converti en acide lactique ou en acide acétique.



D'autres fermentations plus importantes au point de vue de la contamination ont pour conséquence la décomposition du sucre, suivie d'un dégagement gazeux composé d'acide carbonique, ou d'un mélange de ce gaz avec l'hydrogène, l'azote, et même le formène.

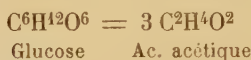
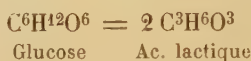
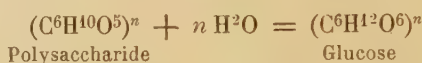
Ce dernier mode de fermentation paraît une caractéristique des bactéries pathogènes et intestinales, comme le *coli-bacille*, qui, on le sait, jouit à un haut degré de la propriété de faire fermenter le glucose avec un abondant dégagement gazeux, dans lequel domine l'hydrogène ; dans ce cas, de l'acide butyrique prend naissance aux dépens du glucose lui-même, ou de l'acide lactique.

De ce qui précède, il résulte que la cellulose, et d'une manière générale les polysaccharides, sont convertis en acides gras; cette transformation consiste en une transposition moléculaire, ou bien en une décomposition suivie d'un dégagement gazeux, dans lequel figure l'hydrogène ; ces deux modes de dislocation de la molécule primitive sont naturellement sous la dépendance de l'espèce bactérienne qui domine, ou qui est le mieux adaptée aux conditions de vie, et nous retrouvons ici encore l'influence de la température.

Les bactéries intestinales qui ont besoin d'un peu de chaleur pour vivre et se développer, ne travaillent activement

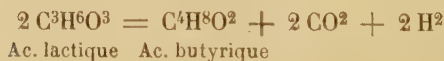
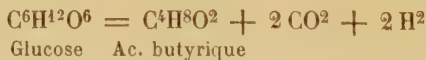
qu'en été ; c'est probablement la raison pour laquelle les fermentations gazeuses et leurs conséquences s'observent particulièrement pendant la saison chaude, où encore lorsque l'eau contaminée est soumise à un chauffage méthodique.

Tous ces faits importants peuvent être résumés dans les équations suivantes :

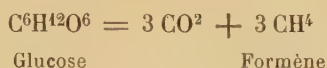


Lorsque les bactéries oxydantes dominent, l'acide acétique est finalement converti en eau et en acide carbonique, c'est-à-dire que la cellulose est ramenée aux formes primitives simples, qui font retour ainsi à l'atmosphère et servent, sous la double influence de la radiation solaire et de la fonction chlorophyllienne, à l'édification de nouvelles molécules.

Si les conditions d'habitat deviennent défavorables, les bactéries anaérobies, jointes aux bactéries facultatives qui prennent ce rôle, changent les phénomènes de décomposition ; avec l'hydrogène apparaissent les acides gras dont l'odeur rappelle le rancissement des corps gras, et celle des culturesensemencées avec une eau fortement polluée. On aura donc :



Enfin la décomposition peut aboutir au formène, ce qui explique les bulles gazeuses de dimensions variables, qui s'élèvent du fond des rivières contaminées en été.



La production d'hydrogène naissant provoque l'apparition de composés nouveaux et la disparition d'autres combinaisons.

Les nitrates sont réduits, ramenés à l'état de nitrites et d'ammoniaque, les sulfates, celui de calcium en particulier, sont transformés en sulfure, qui, décomposé par l'acide carbonique, donne de l'hydrogène sulfuré; en réagissant sur les composés organiques à fonction alcoolique ou aldéhydique il engendre des mercaptans; enfin, l'oxyde ferrique est converti en oxyde ferreux.

Pendant que ces réactions secondaires se produisent, les bactéries se développent, fabriquent et excrètent des produits divers, parmi lesquels se trouvent très certainement des toxines; l'azote organique augmente, tandis que l'azote nitrique rétrograde et disparaît.

Les protéides subissent des décompositions parallèles, hydrolysés par les enzymes, ils sont convertis en produits solubles et assimilables, les albumoses et les peptones; à partir de ce dernier terme commence la dislocation de la molécule.

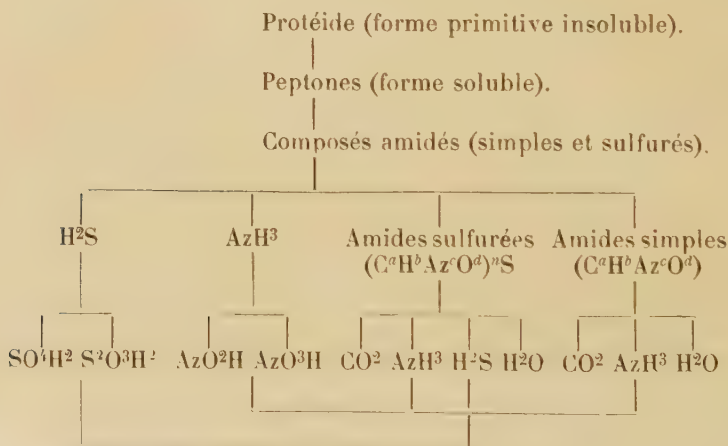
Le soufre se détache en partie à l'état d'hydrogène sulfuré, et l'azote sous forme d'ammoniaque; le reste est converti en un mélange d'amides complexes, dans lesquels domine la leucine.

Si le milieu est oxydant, l'hydrogène sulfuré est trans-

formé en acide sulfurique, l'ammoniaque en acide nitrique, les amides sont brûlées, et les composants ramenés aux formes primitives simples, eau, acide carbonique, ammoniaque, qui ultérieurement deviendra de l'acide nitrique.

Les acides qui ont pris naissance s'unissent à la chaux et à la magnésie, augmentent la dureté, qui devient ainsi l'indice d'une contamination passée, c'est-à-dire de la combustion de la matière organique.

Lorsque l'oxydation subit un temps d'arrêt qui coïncide généralement avec la présence de la vie anaérobie, l'eau peut contenir de l'hydrogène sulfuré, de l'ammoniaque libre, des sulfures minéraux et organiques ; mais comme l'eau est rarement un milieu entièrement anaérobie par suite des réactions qui ont lieu à la surface, généralement on trouve dans les eaux impures des composés intermédiaires, c'est-à-dire des hyposulfites, des nitrites, des sulfures organiques, du phosphore également organique. Le schéma suivant montre l'ensemble des transformations que nous venons d'indiquer pour les matières albuminoïdes.



La présence dans les eaux contaminées des composés cités est naturellement fonction de la teneur de l'eau en matière organique, en bactéries, et de la température, qui doit être favorable aux microorganismes anaérobies.

Toutefois une eau contaminée, du fait de conditions défavorables aux bactéries de la putréfaction, peut ne pas contenir les composés caractéristiques au moment de l'analyse ; dans ce cas, qui se présente généralement en hiver et au printemps, on constate la présence d'une proportion anormale d'azote et de phosphore organique.

Si l'on soumet cette eau à une température convenable, les nitrates disparaîtront, mais l'azote organique augmentera, les acides gras et les sulfures apparaîtront.

Telles sont les conséquences immédiates qui découlent des considérations que nous venons d'exposer. Il nous reste à décrire les méthodes et procédés qui permettent de mettre en évidence les produits de la putréfaction de la matière organique au sein de l'eau, ceux qui se forment ou disparaissent à la suite des réactions secondaires que nous avons signalées.

D'après ce qui a été dit au sujet de l'influence de la température, les recherches effectuées sur une eau dès son arrivée au laboratoire seront suivies des mêmes opérations pratiquées sur la même eau, maintenue pendant un temps donné à une température constante, favorable au développement des bactéries. Si les résultats sont positifs, on possède une preuve indirecte, mais certaine de la présence d'une quantité de matière organique anormale, et des bactéries de la putréfaction.

PROCÉDÉS GÉNÉRAUX

de recherche et de dosage

DES PRODUITS DE LA CONTAMINATION

Les procédés qui seront décrits dans les pages suivantes, pour la recherche des produits de la contamination, sont de deux ordres.

Les uns s'appuient sur les phénomènes de coloration que développent le violet sulfureux, le chloromercurate de paramidobenzène sulfonate de sodium, et le chlorure d'argent ammoniacal, au contact des eaux pures ou impures.

Les autres représentent l'application d'une méthode générale de séparation de la matière organique des eaux.

Elle consiste à engager celle-ci dans une combinaison barytique insoluble, qui, après dépôt, séparation et lavage, est traitée par une solution d'un carbonate alcalin ; la matière organique, sous la forme d'un composé alcalin soluble, est ensuite caractérisée ou dosée suivant les chapitres indiqués.

ESSAIS PRÉLIMINAIRES

1° Pratiquer l'essai au violet sulfureux.

2° Rechercher les produits de la putréfaction avec le chloromercurate de paramidobenzène sulfonate de sodium.

3° Rechercher les sulfures minéraux ou organiques au moyen du chlorure d'argent ammoniacal.

Ces essais qualitatifs seront effectués à l'arrivée de l'eau au laboratoire et après un séjour en vase clos dans les conditions qui seront indiquées pour chaque réactif. Les résultats obtenus classent déjà l'eau, et indiquent dans quel sens il convient de diriger les recherches.

PRÉCIPITATION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DE L'EAU

Je donnerai ici la description détaillée de la marche méthodique générale, elle ne comprendra que l'opération commune aux divers dosages, ayant particulièrement en vue d'éviter les redites qui nécessairement se présenteraient, si, à chaque chapitre, il était question du mode de séparation de la substance que l'on se propose de doser. La précipitation de la matière organique de l'eau nécessite un réactif spécial que l'on prépare comme il suit.

A 900 c.c. d'eau de baryte pure (1), saturée et claire, on

(1) Il est utile de vérifier la pureté de l'eau de baryte avant de l'employer comme réactif. Très souvent la baryte du commerce contient du cyanure de baryum ; au contact du fer des eaux impures, il se forme du ferrocyanure barytique insoluble qui vient augmenter et fausser le dosage de l'azote organique.

Pour rechercher les cyanures, on mesure 40 à 50 c.c. d'eau de baryte, on ajoute trois à quatre gouttes de perchlorure de fer et un cristal de sulfate ferreux ; le mélange fréquemment agité est abandonné quelques heures à lui-même, puis neutralisé et fortement acidulé par l'acide chlorhydrique.

On obtient, si le cyanure de baryum était présent dans la baryte, une liqueur jaune, avec une teinte bleutée plus ou moins accentuée ; par le repos, au-dessus du précipité blanc de sulfate de baryte, se forme un anneau bleu, de bleu de Prusse. Si l'on a constaté cet anneau, la baryte est recristallisée de l'eau bouillante, généralement deux cristallisations suffisent pour éliminer le cyanure de baryum.

ajoute 250 grammes de chlorure de baryum pur, après dissolution ou saturation suivant la température ambiante, on complète le volume d'un litre, on filtre s'il y a lieu, on conserve le réactif dans des flacons bien bouchés.

Dans trois ou quatre litres d'eau, on verse du réactif barytique à raison de 25 c.c. par litre d'eau en moyenne ; cette dose n'a rien de fixe, on se basera sur la dureté totale ; en général, 25 c.c. suffisent pour entraîner la matière organique des eaux qui titrent de 15 à 25° hydrotimétriques ; au delà de cette limite, on augmente le volume du réactif. La précipitation se fait le plus commodément dans un flacon tubulé, qui est bouché aussitôt après l'introduction du réactif, et agité.

Lorsque le précipité formé est déposé et que l'eau qui le surnage est entièrement éclaircie, ce qui demande douze à quinze heures, on détache la partie adhérente aux parois par des agitations modérées ; quand le tout est réuni au fond du vase où décante l'eau-mère. Le précipité est entraîné dans un ballon, lavé par décantation avec un peu d'eau distillée, puis additionné de deux fois son volume d'une solution de carbonate de potassium au 1/10.

Le ballon est fortement agité, porté sur un bain-marie bouillant, pour assurer l'attaque de toutes les parties du précipité par le carbonate alcalin ; on peut aussi diriger dans la masse, si l'on opère sur un voluble notable de précipité, un courant d'hydrogène, mais il est nécessaire de purifier le gaz, en lui faisant traverser trois flacons contenant le premier du sulfate de cuivre, le second de la potasse au 1/3, le troisième, de l'acétate de plomb au 1/10 ; ce dernier sert de témoin et ne doit point se colorer en noir, ou abandonner un précipité de même couleur.

La présence d'une petite quantité de sulfure de zinc dans le zinc grenailé, et l'hydrogène sulfuré qui prend naissance dans le flacon générateur, aux dépens des sulfates et particulièrement de celui de calcium, rend la purification de l'hydrogène nécessaire.

Au bout d'une heure de chauffe pendant laquelle le ballon aura été fréquemment agité, si l'on n'a pas adopté le courant gazeux comme agitateur mécanique, on retire le ballon du bain d'eau, on laisse refroidir et éclaircir le liquide, qui est ensuite décanté sur un petit filtre. Le résidu est repris par son volume d'eau distillée, porté sur le bain d'eau bouillant, on agite, on filtre en entraînant le précipité sur le filtre. Ce traitement donne une liqueur plus ou moins teintée suivant la teneur de l'eau en matières organiques et son degré de pureté ; elle est après refroidissement exactement mesurée ou amenée à un volume connu avec de l'eau distillée, et divisée en deux parties A et B qui serviront aux recherches et dosages ultérieurs ; il n'est pas nécessaire qu'elles soient égales, il importe seulement que le volume de chacune d'elles soit exactement connu pour pouvoir rapporter les résultats trouvés au litre.

Les deux fractions du liquide alcalin sont employées comme il suit.

A est utilisé pour le dosage de l'azote organique.

B est réservé pour le dosage des acides gras.

L'aspect du précipité barytique est un indice très précieux des qualités de l'eau examinée. En effet, les eaux de pureté organique moyenne, et à plus forte raison les eaux pures, abandonnent un précipité blanc, d'abord floconneux, qui devient rapidement cristallin. Les eaux chargées de principes organiques laissent déposer un précipité blanc grisâtre

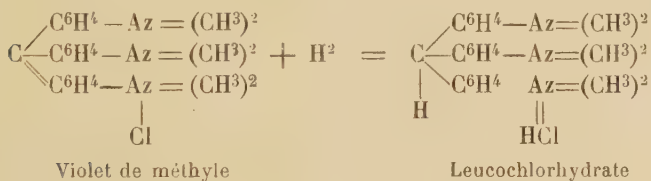
caséux qui reste amorphe même après plusieurs jours de contact.

Le dépôt et l'éclaircissement de l'eau sont d'autant plus rapides que celle-ci est plus pure.

Réactif au violet de méthyle sulfureux.

Le violet de méthyle est le produit d'oxydation du chlorydrate de pararosaniline hexaméthylée, d'après la constitution admise pour cette matière colorante. L'un des trois noyaux benzéniques qui composent la couleur possède la constitution quinonique, l'azote y est pentatomique.

Sous l'influence des réducteurs, comme l'acide sulfureux, le violet fixe H^2 , se change en leucochlorydrate incolore; en même temps, les doubles liaisons sont déplacées.



Par sa constitution le leucochlorydrate est susceptible de se comporter comme un catalyte vis-à-vis de l'oxygène en solution dans l'eau, de sorte que son intervention peut se résumer ainsi.

Dans un système formé par une eau potable, tenant en solution de l'oxygène, du leucochlorydrate sulfureux, l'oxygène est d'abord absorbé par le leucosel qui passe à l'état de violet; à son tour ce dernier est réduit par l'acide sulfureux qui est changé en acide sulfurique, et ces réactions se poursuivent jusqu'à la disparition de l'oxygène dissous.

Lorsque les conditions du milieu le permettent, on aura les réactions suivantes.



D'où il résulte que la régénération de la couleur est accompagnée d'une part de l'absorption de l'oxygène dissous, d'autre part de la transformation de l'acide sulfureux en acide sulfurique. Ainsi présentée, la réaction est incomplète, l'expérience prouve qu'il intervient un autre facteur, le carbonate de chaux, sans la présence duquel la couleur primitive ne renaît pas.

Les recherches qui suivent ont donc pour but d'établir ces relations et celles qui existent entre les indications fournies par le réactif et la pureté des eaux.

Elles nécessitent un réactif titré, c'est-à-dire dont la teneur en acide sulfureux est exactement connue.

On mesure 2 c.c. de solution sulfureuse de violet, préparée comme il sera dit plus loin ; on les verse dans 250 c.c. d'eau distillée ; on titre avec l'iode N/10, soit V le volume trouvé ; pour le convertir en acide sulfureux, il suffit de le multiplier par le facteur 3 milligr. 2.

Les essais suivants ont tous été effectués dans des conditions semblables ; 250 c.c. d'eau étaient additionnés de 2 c.c. de réactif ; après quinze à vingt minutes de contact, on déterminait avec l'iode N/10, la quantité d'acide sulfureux non oxydée, ce qui donnait un volume v , qui se confond avec V, si la couleur n'est pas régénérée, ou qui s'écarte d'autant plus que l'eau contient plus d'oxygène et de carbonate calcique, par conséquent la différence $(V-v)$ représentera l'acide sulfureux disparu ou converti en acide sulfurique. Le tableau ci-après résume les résultats obtenus.

EAUX ANALYSÉES	IODE N/10 ABSORBÉ	COLORATIONS OBTENUES
1 ^e Eau distillée	0 ^{cc} ,0	Nulle.
2 ^e Eau distillée + 2 ^{cc} ,5, CO ³ Na ² n/10 . . .	2 ^{cc} ,2	Violet pourpre.
3 ^e — — + 5 ^{cc} , CO ³ Na ² n/10 . . .	2 ^{cc} ,3	—
4 ^e — — agitée avec CO ³ Ca et filtrée	2 ^{cc} ,1	Violet.
5 ^e Eau de la Compagnie	2 ^{cc} ,6	—
6 ^e — — — + 2 ^{cc} ,5 ou 5 ^{cc} , CO ³ Na ² n/10	2 ^{cc} ,5	Violet pourpre.
7 ^e — — — + 1 ^{cc} , SO ⁴ H ² /n.	0 ^{cc} ,0	Nulle.
8 ^e — — — après ébullition départ de l'oxygène et précipitation de CO ³ Ca	0 ^{cc} ,0	—

L'examen des chiffres inscrits dans la seconde colonne montre que la proportion d'acide sulfureux est restée invariable pour les eaux n^{os} 1, 7, 8, comme la couleur primitive n'a pas été régénérée, il n'y a pas eu absorption d'oxygène à où il résulte que la fixation d'oxygène ne se produit pas avec les eaux neutres ou acides.

La présence d'une petite quantité d'un carbonate alcalin ou alcalino-terreux communique à une eau aérée la propriété de faire renaître le violet, et ce retour à la couleur est suivi de la transformation d'une partie de l'acide sulfureux en acide sulfurique. Il est à remarquer que l'aspect varie avec la nature de l'alcali, le ton dominant est toujours le violet, avec les carbonates de potassium et de sodium il se produit sur un fond rouge, qui n'apparaît pas avec les carbonates terreux.

Quelle est la quantité de carbonate nécessaire pour produire ces réactions ? Ce côté de la question a été étudié

avec l'eau du Rhône au moment où elle recoloré énergiquement le violet sulfureux. Il a été trouvé que cette quantité devait être suffisante pour convertir tout l'acide sulfureux en sulfite neutre.

Il reste à établir les rapports qui existent entre ces données expérimentales et le fait que les eaux pures des produits de la putréfaction sont actives sur le réactif.

Les deux facteurs principaux de la réaction sont l'oxygène et le carbonate calcique ; cependant, le premier n'intervient qu'en présence du second, donc toute cause de nature à diminuer la proportion du carbonate a pour conséquence de rendre l'eau inactive. Les diverses matières organiques apportées par la contamination, sont transformées par les bactéries en acides gras, ceux-ci décomposent les carbonates terreux, et l'eau primitivement alcaline devient neutre ou acide ; en même temps elle perd son activité sur le violet. La présence des acides gras, leur proportion, étant intimement liées à la pureté de l'eau, on s'explique les relations qui existent entre la contamination et les indications fournies par le réactif.

Ces faits s'observent le plus nettement avec les eaux dont le degré hydrotimétrique est peu élevé, 15° environ ; la faible proportion de carbonate rend sensible ses moindres variations. Pour cette raison, les eaux dont le titre est supérieur seront par une dilution convenable ramenées à un titre voisin ou égal de 15°, et l'on effectuera deux essais, l'un immédiat, l'autre après conservation de l'eau en vase clos.

Préparation du réactif. — On dissout 1 gramme de violet cristallisé, dans 800 c.c. d'eau distillée pure ; on ajoute

50 c.c. d'acide sulfurique normal et 25 grammes de bisulfite de sodium pur et sec ; la liqueur se décolore, toutefois elle conserve une teinte verdâtre qui persiste plusieurs jours ; on l'agite avec du noir lavé, on filtre, on amène au volume d'un litre, on procède ensuite à l'essai et au titrage du réactif.

Essai du réactif. — A 250 c.c. d'eau distillée on ajoute 2 c.c. de solution de violet sulfureux ; il ne doit se produire aucune coloration, s'il en est autrement on acidule, ou bien on vérifie l'eau distillée. Le réactif est conservé dans un flacon jaune et bouché. Il n'est pas avantageux d'en préparer de grandes quantités, avec le temps, l'acide sulfureux s'oxyde, et le réactif devient moins sensible.

Pratique de l'essai d'une eau. — On prend d'abord le degré hydrotimétrique total de l'eau, s'il est supérieur à 15°, on le ramène au voisinage de ce titre par une dilution convenable avec de l'eau distillée. On filtre sur un double filtre Schleicher 100 c.c. d'eau, on rejette les premières portions, on recueille dans un tube de gros diamètre, préalablement rincé à l'acide sulfurique et à l'eau distillée, 50 c.c. de liquide filtré, on ajoute 1 c.c. de réactif, on observe les phénomènes qui se produisent. Plusieurs cas peuvent se présenter.

Premier cas. — S'il y a recoloration, on voit à la surface se développer un anneau violet, qui peu à peu augmente d'intensité et gagne tout le liquide ; parfois la réaction ne débute qu'au bout de quelques minutes ; souvent aussi avec les eaux de source, ou de puits profonds, le tube étant convenablement placé et le réactif versé lentement, on voit se développer le violet à mesure qu'il gagne le fond.

Les eaux pures des produits de la putréfaction recolorent le violet, la couleur renaît avec la teinte primitive, elle est persistante pendant plusieurs heures; nous dirons que la réaction est *positive*.

Deuxième cas. — On n'observe aucune coloration, la réaction est dite *négative*. Elle est donnée par les eaux contaminées ou impures, où se passent des fermentations putréfactives anaérobies suivies de la formation des acides gras.

Entre ces deux cas extrêmes, trouve place un troisième qui concerne le mélange des eaux pures et contaminées, ou le début de l'infection par les produits sulfurés.

Il se forme à la surface un anneau peu développé, rarement la couleur apparaît dans tout le liquide ; si elle survient, elle est fugace et disparaît en peu de temps, laissant une eau incolore ou faiblement teintée.

Essai après conservation de l'eau en vase clos. — Dans un flacon bouchant à l'émeri, nettoyé comme il a été dit plus haut, on filtre 100 c.c. d'eau telle quelle, ou amenée au titre de 15° hydrotimétriques ; le flacon est bouché et abandonné à lui-même pendant quarante-huit heures, à la température moyenne de 18-20°.

Les eaux pures et même moyennement pures, restent claires, les autres se troublent parfois ; on filtre 50 c.c. d'eau, avec les précautions indiquées, on ajoute 1 c.c. de réactif. Les eaux pures supportent cette seconde épreuve sans changement ; la couleur primitive renaît avec une intensité sinon égale, du moins voisine de celle du premier essai ; les eaux de pureté organique moyenne se montrent moins actives ; quant aux eaux impures, elles deviennent inactives. Si donc

on constate une diminution notable de la coloration, suivie de sa disparition rapide, c'est le signe d'une eau suspecte, qui contient assez de bactéries et de matières organiques pour absorber l'oxygène dissous, et engendrer des acides gras en proportion suffisante pour neutraliser le carbonate calcique initial.

Relations de la réaction avec les saisons et la température. — On remarque le mieux l'influence des saisons en opérant sur une eau de surface, telle que celle d'un fleuve ou d'une rivière, qui subit plus aisément les variations de la température ambiante qu'une eau de puits profond ou de source.

Si les observations partent de l'entrée de l'hiver, on constate qu'à ce moment la réaction est positive, qu'elle se maintient ainsi jusqu'au mois de mai ; déjà à cette époque on remarque parfois au moment des orages, des disparitions momentanées, qui d'ailleurs cessent avec les causes de perturbations atmosphériques ; mais à mesure que l'on gagne l'été, la réaction devient de plus en plus faible ; finalement elle disparaît vers la mi-juin, pour réapparaître fin octobre ou en novembre d'une manière permanente pendant plusieurs mois.

Ainsi durant une période de quatre à cinq mois qui coïncide avec la saison chaude, une eau contaminée est inerte au violet sulfureux ; cette période concorde généralement avec l'éclosion des épidémies, et en particulier de la fièvre typhoïde.

D'observations nombreuses accumulées pendant plusieurs années, il résulte cette conclusion générale : étant donnée une eau de pureté organique moyenne, mais susceptible de

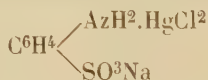
subir des variations de température, on remarque constamment la disparition du violet lorsque la température de cette eau vient au voisinage de 20-25°.

C'est la raison pour laquelle les eaux de surface se comportent comme il a été dit, dans les puits profonds où la température reste constante, ou à peu près au voisinage de 9° ; de même pour les sources, l'eau perdra rarement ses propriétés actives vis-à-vis du violet sulfureux, alors même que la proportion de matière organique est au-dessus de la moyenne ; à cette température, la vie reste et se maintient nettement aérobie, mais ces eaux perdent rapidement leur activité lorsqu'on les conserve quelque temps à 18 ou 20°.

Parmi les autres causes qui influent sur le retour à la couleur primitive, citons d'abord la proportion d'azote organique, en second lieu, celle des autres acides gras.

L'activité d'une eau décroît à mesure que le taux en azote organique s'élève ; elle devient inerte lorsque la proportion atteint ou dépasse 0 milligr. 10 au litre ; les mêmes faits s'observent lorsque la quantité d'acides gras s'élève au-dessus de 0 milligr. 8 au litre.

Réactif au chloromercurate de paramidobenzène sulfonate de sodium.



Le principe sur lequel repose la recherche des produits de la putréfaction au moyen du paramidobenzène sulfonate de sodium est le suivant.

Lorsqu'on diazote cette combinaison en présence d'une aminé ou d'un phénol, il se forme une matière colorante

jaune, jaune orangé, ou même rouge, suivant la nature du corps qui s'unit au diazo dérivé formé.

Les eaux impures contiennent toujours des dérivés amidés, restes de la molécule albuminoïde primitive ; le composé phénolique peut prendre naissance aux dépens de l'un d'eux, de la même manière que le phénol se forme par réduction et oxydation de la tyrosine, ou bien encore le produit de dislocation peut présenter les deux fonctions et agir soit par l'un ou l'autre des groupements.

L'action du chloromercurate de paramidobenzène a lieu en deux phases bien distinctes. Lorsqu'on agite une eau avec le chloromercurate, il se dissout d'abord, et d'autant plus abondamment que la matière organique est en plus forte proportion ; après quelques minutes de contact, le liquide abandonne un précipité d'aspect variable ; il est blanc cristallin si l'eau est pure ; caséux, de couleur jaune plus ou moins accentuée suivant la pureté de l'eau ; il se compose alors de calomel, de phosphate mercurieux, et d'oxyde ferrique.

La présence du calomel est le signe certain d'une oxydation qui a porté ses effets sur l'oxyde ferreux, l'oxyde de phosphore, et sur la matière organique avec laquelle ces deux éléments étaient primitivement unis.

C'est à la suite de cette réaction complexe que la matière organique des eaux impures devient active sur le paradiazo-benzène sulfoné, et se manifeste par une couleur généralement jaune avec une pointe d'orangé plus ou moins développée.

Comme le composé qui est très probablement une nucléine ferrugineuse, existe normalement dans l'urine, l'apparition de la couleur citée devient l'indice de l'infection présente

de l'eau, non seulement par les liquides de déjection, mais aussi par les microorganismes anaréobies parmi lesquels figurent les bacilles pathogènes que l'on recherche ordinairement, le *coli* et le *bacille* d'Eberth.

La recherche des produits de la contamination par diazotation du chloromercurate de paramidobenzène, nécessite les réactifs suivants.

1° Du chloromercurate de paramidobenzène sulfonate de sodium pur.

2° Une solution de nitrite de potassium pur au 1/100°.

3° Une solution d'acétate de sodium au 1/3.

Chloromercurate de paramidobenzène sulfonate de sodium. — Le sel que l'on trouve dans le commerce est en beaux cristaux, violet améthyste, plus ou moins foncé ; cet aspect est dû particulièrement au fer. Pour l'obtenir pur, on dissout 200 grammes de sel dans un litre d'eau distillée ; la solution est versée dans un flacon, agitée avec du noir lavé et laissée en contact pendant un ou deux jours ; on filtre ; le liquide qui passe est coloré en jaune persistant que le noir est impuissant à faire disparaître.

A la solution on ajoute de l'eau de baryte en léger excès, on filtre, et l'excès de baryte est à son tour enlevé par l'acide sulfurique étendu ; lorsque la liqueur qui surnage le précipité de sulfate de baryte est éclaircie, on filtre, et on verse une solution saturée de bichlorure de mercure en excès.

Si les solutions étaient claires, on obtient un précipité d'un blanc éclatant, constitué par le chloromercurate de paramidobenzène sulfonate de sodium. On laisse le précipité se réunir, on le lave par décantation, on l'essore, on le

sèche à l'abri des poussières atmosphériques et de la lumière, dans la cloche à acide sulfurique.

Solution de nitrite de potassium. — On dissout 1 gramme de nitrite de potassium pur dans l'eau distillée, on complète ensuite le volume de 100 c.c.

Solution d'acétate de sodium. — Une partie d'acétate de sodium pur et fondu est dissoute dans deux parties d'eau distillée.

Pratique de la recherche. — Elle comporte deux essais, l'un immédiat, l'autre après un séjour déterminé à l'étuve.

On juge d'autant mieux si la réaction est manifestement positive, négative ou indécise, que l'on a un terme de comparaison ; pour cette raison, il convient de préparer trois tubes ; l'un contiendra de l'eau potable pure des produits de la putréfaction ; le second, la même eau souillée par addition d'eau d'égout, ou d'un liquide de l'organisme, comme l'urine ; le troisième, l'eau à analyser.

La différence des teintes obtenues permet de mieux saisir le phénomène de coloration ou de non-coloration ; il est en outre indispensable de soumettre les deux échantillons à une filtration soigneuse afin d'éviter l'action secondaire des substances, ou des microorganismes en suspension dans l'eau.

On mesure donc 100 c.c. d'eau à analyser, autant d'eau pure ; d'autre part, à un égal volume de cette dernière, on ajoute une ou deux gouttes d'urine diluée.

On choisit ensuite trois flacons, A, B, C, bouchant à l'émeri, nettoyés à l'acide sulfurique concentré et à l'eau distillée ; on les garnit d'un petit entonnoir muni d'un double filtre Schleicher, on filtre les diverses eaux dans leurs vases respectifs.

A chacun des flacons on ajoute 0 gr. 10 de chloromercurate en poudre, on bouche, on agite, on abandonne au repos huit heures. Si l'eau est pure, elle s'éclaircit rapidement ; si elle est impure, elle reste laiteuse pendant un temps variable.

Sur trois tubes propres, A, B, C, de gros diamètre, on dispose un petit entonnoir garni d'un double filtre, comme ci-dessus ; dans le tube A, on filtre l'eau pure, B recevra l'eau souillée, C l'eau à analyser ; après avoir rejeté les premières portions filtrées, on recueille 50 c.c. de liquide qui doit être parfaitement limpide.

A chacun d'eux on ajoute 1 c.c. 5 de nitrite de potassium, on agite avec une baguette de verre propre, puis 4 c.c. d'Hcl/N ; après mélange les tubes sont portés dans un bain d'eau chauffée à 80°, dans lequel ils séjournent quinze minutes. Au bout de ce temps, la diazotation pouvant être considérée comme terminée, les tubes sont retirés, soumis à une première observation, en les examinant suivant l'axe. A sera incolore ; B présentera une teinte accentuée ; quant à C, qui contient l'eau à analyser, il sera ou ne sera pas coloré, suivant le degré de pureté de l'eau. Les tubes sont coiffés d'un capuchon de papier et abandonnés au refroidissement ; les teintes deviennent plus accentuées ; toutefois pour se prononcer il convient d'attendre quelques heures, mais avec un peu de pratique de la réaction, on distingue facilement les eaux pures des eaux impures, après une ou deux heures de repos.

Deux cas sont à considérer.

Premier cas. — La teinte obtenue suivant l'axe du tube est *nulle*, le ménisque est très faiblement coloré en jaune.

Réaction négative.

L'eau est pure des produits de la putréfaction ; ce cas comprend les eaux de source et de puits profonds pures ; les unes et les autres recolorent énergiquement le violet sulfureux, la couleur est persistante, elles absorbent peu d'oxygène, ne contiennent pas de sulfures et de phosphore organique ; la proportion d'azote organique et d'acides gras est au-dessous de la moyenne admise.

Deuxième cas. — La teinte obtenue est nettement jaune, avec à la surface un anneau orangé plus ou moins accentué. *Réaction positive.*

Cette coloration est l'indice d'une eau impure, souillée par l'apport direct ou indirect des eaux d'égout ou ménagères, des infiltrations de toute nature ; elle signifie aussi que la matière organique n'a subi aucune combustion et que l'eau est le siège de fermentations anaérobies.

C'est le cas des eaux des fleuves et des rivières qui reçoivent le tout à l'égout, sur les bords desquelles sont installées des industries diverses, telles que blanchisseries, féculeries ; pendant la saison chaude, elles ne recolorent pas le violet sulfureux ; si parfois la couleur rénaît, elle est peu intense, passagère, limitée à un anneau qui se développe à la surface et disparaît en peu de temps.

De semblables eaux contiennent généralement des composés sulfurés, du phosphore organique ; l'azote organique dépasse sensiblement la limite, il augmente notablement après un séjour à l'étuve, en même temps que les nitrates disparaissent.

Remarque. — La netteté des résultats dépend beaucoup de la durée du contact du chloromercurate avec l'eau ; nous avons vu, en effet, que la matière organique subissait une oxydation ; le temps indiqué, huit heures, n'a rien de fixe,

c'est un terme moyen, qui peut être dépassé et porté à douze et même vingt-quatre heures.

L'aspect du précipité, celui de l'eau qui le surnage sont caractéristiques ; si l'eau est pure, le chloromercurate se sépare cristallisé et blanc, l'eau est limpide et incolore ; si elle est impure, le précipité est plus ou moins caséeux, coloré en jaune par de l'oxyde de fer; l'eau qui l'a abandonné présente une teinte brune, particulière, faible, mais qui ressort nettement, si on la compare avec une eau pure soumise à un traitement identique.

Il arrive fréquemment, surtout en hiver et au printemps, que la réaction est peu développée ; on la rend manifeste en ajoutant à chacun des tubes 3 c.c. d'acétate de sodium; cette addition renforce les tons, qui deviennent plus faciles à distinguer ; en été l'emploi de l'acétate est le plus souvent superflu avec les eaux de surface.

Par suite de l'action propre de l'acétate sur les diazodérivés, l'examen des tubes sera fait au bout d'une heure, autrement, avec le temps, la couleur se développe dans tous les tubes ; cependant, l'intensité reste liée à la pureté des eaux, et ce fait assure encore à la réaction une indication nette.

Recherche des produits de la putréfaction après chauffage de l'eau. — Les effets de la chaleur sur les eaux impures sont connus depuis longtemps ; on sait qu'ils ont pour résultat le développement des bactéries dont le grand nombre donne à l'eau un aspect laiteux plus ou moins prononcé suivant le degré de pureté.

En règle générale les eaux pures restent limpides, elles sont aussi sans action sur le paradiazobenzène sulfoné après

quarante-huit heures de chauffe à 35-40°, tandis que les eaux impures deviennent plus actives et offrent une coloration plus accentuée.

Cette recherche s'effectue comme il suit. On prépare de la même manière que ci-dessus trois échantillons d'eau filtrée, dont l'un aura été préalablement souillé ; les flacons sont bouchés, portés à l'étuve, chauffée à 35-40°, où ils séjournent pendant quarante-huit heures. On les laisse refroidir, on filtre les liquides sur un double filtre, on recueille 100 c.c. de chacun auxquels on ajoute 0 gr. 10 de chloromercurate ; après huit ou dix heures de repos, on filtre 50 c.c. de liquide dans les tubes A, B, C ; on conduit l'opération comme il a été dit plus haut.

L'eau souillée présentera une coloration plus prononcée que dans l'opération à froid ; il en sera de même pour l'eau à analyser, si toutefois elle en a donné une dans la première opération, et l'intensité est naturellement fonction du degré de pureté.

Les eaux de grande pureté organique et microbienne supportent cette seconde épreuve sans modifications apparentes de la réaction primitive ; celles de pureté organique moyenne, c'est le cas le plus fréquent, présentent une teinte jaune ordinairement faible ; si la teinte obtenue est devenue notablement plus accentuée que dans l'essai immédiat, il convient de considérer l'eau comme suspecte.

Observations sur la réaction. — Les indications fournies par le réactif sont inverses de celles du violet sulfureux ; elle donne avec le chloromercurate la réaction négative, qui devient positive à un degré variable suivant que le violet est peu ou point régénéré.

Relations entre les indications de la réaction et les saisons. — Le facteur principal de l'apparition de la réaction positive, abstraction faite de la matière organique, étant la température, on ne l'observe généralement qu'en été, même avec des eaux contaminées, mais le chauffage de l'eau en vase clos permettra de distinguer les eaux réellement pures de celles qui sont infectées par les microorganismes de la putréfaction.

Les eaux de surface, celles des puits peu profonds, sujettes à des variations de niveau et de température, donnent la réaction positive périodiquement. Elle apparaît vers le mois de juillet, augmente progressivement jusqu'à la fin d'août, reste stationnaire le mois de septembre et disparaît à l'entrée de l'hiver pour recommencer le même cycle l'année suivante. Elle survient quand disparaît la réaction positive au violet sulfureux.

Pour les eaux de puits, dont la température est constante, ou à peu près, au voisinage de 9°, la réaction est fréquemment négative, alors même que la pureté organique est douteuse; elles sont très fragiles en dehors des conditions de température citées ; il suffit, en effet, de les conserver quelque temps à l'étuve pour les voir perdre leurs propriétés premières et se comporter comme des eaux impures. Les puits peu profonds donnent lieu aux mêmes remarques que les eaux de surface.

Influence de certaines substances. — L'urine, les matières fécales, et en général tous les produits de la putréfaction donnent la réaction positive ; on ignore à quelle substance est attribuable la réaction ; les uns la considèrent comme caractéristique des pigments biliaires, d'autres, avec Erlich,

comme un indice de certaines affections ; bien avant la publication de ces faits, Griess avait tenté de l'appliquer à l'analyse des eaux.

Il est certain que souvent l'urine à la sortie de la vessie est inerte; exposée à l'air, elle devient rapidement active ; toutefois le maximum d'intensité se produit lorsqu'elle a subi un commencement de fermentation sulfhydrique.

Les phénols sont tous très actifs; la coloration est variable avec la constitution du dérivé ; avec le phénol ordinaire on observe seulement une teinte jaune ; elle est jaune orangé semblable à celle qui se développe dans les eaux souillées, avec la résorcine ; elle est rouge, ou acajou avec la pyrocatechine.

AZOTE ORGANIQUE

Wanklyn, Chapmann et Smith, ont introduit en 1867, dans l'analyse de l'eau, un procédé de dosage dit de l'azote albuminoïde et qui serait mieux qualifié sous la dénomination d'azote organique. Cette méthode a été l'objet de nombreuses critiques motivées d'une part par l'action irrégulière du permanganate de potassium, d'autre part par les transformations incessantes de la matière organique au sein de l'eau.

D'après Mallet et Smart la molécule albuminoïde primitive serait scindée en deux groupes de composés azotés ; les uns cèdent facilement leur azote au permanganate alcalin,

les autres résistent ; avec le temps, les bactéries convertiraient ces derniers dans les premiers. C'est certainement dans ces faits qu'il convient de rechercher la divergence des opinions sur les quantités limitées d'azote albuminoïde que doivent contenir les eaux potables.

D'après Wanklyn et ses collaborateurs, lorsqu'une eau en renferme 0 milligr. 1 au litre elle est suspecte, dangereuse si la dose s'élève à 0 milligr. 45. Mason trouve cette limite trop sévère ; ses recherches l'amènent à admettre une proportion de 0 milligr. 07 d'azote organique au litre pour les eaux potables et de 0 milligr. 459 pour celles qui sont polluées. Mallet indique comme teneur moyenne des eaux potables 0 milligr. 152 ; Leeds va plus loin, en ce qui concerne les rivières américaines ; la proportion d'azote organique oscillerait entre 0 milligr. 1 et 0 milligr. 28, sans que les eaux perdent leur caractère de potabilité. Le procédé de dosage de l'azote organique que je vais décrire se distingue de la méthode ordinaire par la séparation préalable de la matière organique azotée, et la destruction ultérieure de cette même matière par l'acide sulfurique concentré.

Dosage de l'azote organique. — Le liquide alcalin A, obtenu comme il a été dit (p. 13), est neutralisé par l'acide sulfurique étendu et évaporé. Le résidu est desséché à l'étuve, détaché du vase qui le contient, introduit dans un ballon de 250 c.c. de capacité, avec 6 ou 8 c.c. d'acide sulfurique fumant. Le ballon est adapté à un tube coudé, qui s'ouvre au-dessus d'une solution de carbonate de soude pour absorber les vapeurs d'acide sulfureux. On chauffe d'abord modérément, pour provoquer la carbonisation de la matière organique, on élève ensuite la température jusqu'à l'ébul-

lition qui est maintenue aussi longtemps que le liquide reste coloré.

Le ballon est à ce moment détaché, abandonné au refroidissement ; on verse 100 c.c. d'eau distillée, on fait bouillir pour chasser l'acide sulfureux, on laisse refroidir.

Le liquide est amené au volume de 250 c.c., additionné de phthaléine, introduit dans un ballon de 500 c.c. que l'on fixe à un bouchon traversé par deux tubes ; l'un d'eux est recourbé, il relie le ballon à un réfrigérant descendant ; le second est droit, muni d'un entonnoir à l'une de ses extrémités tandis que l'autre s'ouvre à une petite distance du fond.

Par l'entonnoir on verse de la soude bouillie, jusqu'à ce que le liquide se colore en rouge intense persistant, on distille et recueille 20 à 25 c.c. d'eau, on éloigne le feu, on laisse refroidir pour provoquer une rentrée d'air ; au bout d'un quart d'heure, on procède à une seconde distillation pour obtenir un volume total de 40 à 45 c.c. de produit distillé.

Le volume du liquide distillé est amené à 50 c.c. ; on dose ensuite l'ammoniaque selon Nessler, sur la totalité ou une partie aliquote et connue ; du poids de l'ammoniaque trouvé on déduit celui de l'azote.

Variations de l'azote organique. — Il ressort du tableau ci-dessous qui résume les moyens obtenus avec l'eau du Rhône, exception faite pour les crues ou toute autre cause de perturbations accidentelles, que la proportion de l'azote organique contenue dans une eau de surface n'est pas *fixe*.

Elle est minimum en hiver, maximum de juin à octobre ; ces variations coïncident avec l'élévation de la température ambiante.

Comme les causes de contamination ou l'apport des matières organiques par un cours d'eau donné restent sensiblement les mêmes en toute saison, il est permis de conclure que l'augmentation est due à un arrêt de l'oxydation de l'azote organique ou au développement des microorganismes. En été, les microorganismes oxydants se trouvant dans des conditions défavorables se retirent devant les bactéries de la putréfaction ; de fait, c'est en été qu'une eau de surface perd la propriété de recolorer le violet sulfureux.

Relations entre l'azote organique et la réaction de l'eau sur le violet sulfureux. — Si l'on prend pour terme de pureté d'une eau son action sur le violet sulfureux, et si l'on admet ce qui semble ressortir de l'ensemble de toutes les recherches, qu'elle est suspecte au moment où elle perd la propriété de faire renaître la couleur primitive, on remarque une relation entre la puissance de recoloration de l'eau vis-à-vis du violet, et sa teneur en azote organique. Le tableau suivant résume ces rapports, et montre que lorsque l'eau est inactive au violet, elle contient 0 milligr. 08 d'azote organique au litre. Ce chiffre se confond avec la constante de Mason pour la teneur limitée des eaux potables en azote organique.

	Janv.-Mars	Avril-Mai	Juin-Oct.	Nov.-Déc.
Azote organique pour 1.000 c.c. d'eau. . . .	milligr. 0,03	milligr. 0,05	milligr. 0,06-0,08	milligr. 0,04
Réaction au violet de méthyle sulfureux . .	Positive et persistante	Positive moins accentuée	Négative ou douteuse	Positive

RÉTROGRADATION DES NITRATES

La rétrogradation des nitrates, ou leur disparition plus ou moins complète, est intimement liée à la vie bactérienne ainsi qu'à deux ordres de réactions différents.

Dans le premier, une cellule végétale vit et se développe ; comme les autres végétaux, elle tire des nitrates la majeure partie de l'azote nécessaire à ces fonctions ; par là, elle provoque leur disparition, ou mieux la transformation de l'azote minéral en azote organique.

Dans le second, cette même cellule excrète des diastases qui déterminent la dislocation des composés chimiques en solution ; dislocation le plus souvent suivie de dégagements gazeux.

En effet, les sources les plus fréquentes de pollution des eaux, sont les eaux d'égout et de surface, les infiltrations de fosses d'aisances ; toutes charrient des microorganismes de l'intestin, parmi lesquels se trouve en abondance le coli et ses variétés, parfois l'Eberth.

Le bacille d'Eberth est doué d'une action très marquée sur les nitrates ; les recherches de MM. Hugounenq et Doyon, de M. Grimbert, nous ont montré que le dit bacille les transformait en nitrites, qui par une réaction bien connue sur les composés amidés, ou sur l'ammoniaque, produit un dégagement d'azote. Cette production de gaz azote ne se manifeste pas dans les cas ordinaires, mais on observe fréquemment un léger déchet d'ammoniaque dans les eaux fortement souillées, comme celles des égouts, lorsqu'on les maintient à 41-42°, un temps suffisant.

Le coli-bacille et ses variétés est l'espèce la plus répandue

dans les eaux polluées, par les déjections humaines ou animales ; c'est d'ailleurs l'hôte habituel de l'intestin ; son action sur les nitrates est moins marquée que celle de l'Eberth, mais il convertit rapidement à une température favorable les hydrates de carbone en acides gras, avec production de gaz carbonique et d'hydrogène.

Il semble donc *a priori* que l'action de la chaleur sur une eau impure devrait avoir pour conséquence un dégagement gazeux, composé d'azote, si l'Eberth domine, mais le plus souvent d'acide carbonique et d'hydrogène, à cause de la fréquence du coli-bacille.

Cependant l'expérience ne confirme pas cette conclusion, au moins dans la grande majorité des cas ; toutefois avec les eaux très chargées en matières organiques, il se produit quelques bulles gazeuses qui se réunissent à la surface, sous le voile mycélien, qu'elles soulèvent irrégulièrement. L'absence de gaz tient à la petite quantité de matière organique en solution et non à celle des bactéries, car il suffit d'ajouter du glucose pour le voir apparaître.

Cela posé, si l'on envisage une eau contaminée contenant des nitrates, un peu de matière organique, des microorganismes parmi lesquels l'espèce dominante est le coli, l'hydrogène qui provient de la fermentation réduit les nitrates, forme de l'eau et de l'ammoniaque ; ces composés étant solubles, aucune manifestation extérieure ne se produira. L'indice de pollution risquerait de passer inaperçu, s'il n'existait une relation facile à concevoir entre la rétrogradation des nitrates, l'augmentation de l'azote organique, la production ou le déchet d'ammoniaque, et la pureté des eaux, non seulement en bactéries, mais aussi en matière organique.

Détermination de la rétrogradation des nitrates. — Cette recherche comprend le dosage immédiat de l'ammoniaque libre et des nitrates; celui de l'azote organique fait l'objet d'une opération déjà décrite ; ensuite, la même série de déterminations pratiquées sur l'eau chauffée à 41-42° pendant quarante-huit heures.

On filtre sur un double filtre Schleicher l'eau à analyser, on prélève 100 c.c. auxquels on ajoute 1 c.c. de lessive de soude bouillie; après séparation des bases terreuses, on dose directement l'ammoniaque selon Nessler.

Vingt-cinq c.c. d'eau sont évaporés au bain-marie ; le résidu sec est repris par 5 à 6 c.c. d'eau distillée, on filtre, le liquide clair est amené à siccité, sur la partie solide, les nitrates sont déterminés colorimétriquement, après transformation en picrate d'ammoniaque.

Si l'on connaît la proportion d'azote organique, on possède tous les éléments de la première opération, il ne reste qu'à ramener tous les résultats au litre.

La deuxième partie comprend, ainsi qu'il a été dit, la même série de dosages pratiqués sur l'eau chauffée.

On remplit d'eau à analyser un flacon à l'émeri de la capacité de 1 litre, préalablement rincé à l'acide sulfurique et à l'eau distillée ; on le porte à l'étuve chauffée à 41-42° ; après quarante-huit heures de séjour, on procède au dosage de l'ammoniaque libre et des nitrates par les procédés indiqués, le reste de l'eau sert à la détermination de l'azote organique ; il est additionné de 20 c.c. de réactif barytique. Le précipité est traité selon la méthode générale, c'est-à-dire épuisé par le carbonate de potassium, la solution alcaline est évaporée à siccité, la matière organique détruite par l'acide sulfurique, l'ammoniaque qui résulte de ce traite-

ment est déplacée par un alcali, entraînée par distillation et dosée par la méthode habituelle.

Le tableau suivant contient les résultats obtenus pour diverses eaux.

	DOSAGES IMMÉDIATS			Dosages après chauffage de 48 h à +41°-42°		
	AzH ³	Az ² O ⁵	Azote organique	AzH ³	Az ² O ⁵	Azote organique
	mi ligr.	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.	milligr.
Rhône (mai 1903). .	»	2 »	0,40	»	1,80	0,43
— (juin 1903). .	»	1,90	0,43	»	1,60	0,48
Saône (mai 1903). .	traces	3,20	0,72	0,25	1 »	1,28
— (juin 1903). .	0,02	3,10	1,28	0,30	0,85	1,78
Eau d'égout (fév. 1903)	80 »	15 »	2,40	50 »	»	4,16

Le fait qu'une eau consomme ses nitrates et donne lieu à une augmentation d'azote organique, prouve déjà la présence d'un nombre anormal de germes ; si à cette première constatation s'ajoute la formation d'ammoniaque libre, il devient évident que l'eau contient des bactéries anaréobies, du coli le plus souvent, comme l'eau de Saône, en proportion relativement élevée, ou tout au moins supérieure à celle qui existe dans une eau potable, comme le Rhône.

L'eau qui a fourni ces résultats doit être tenue pour suspecte ; si la quantité de nitrates disparus atteint 60 à 70 p. 100, et le gain en azote organique, la moitié du poids primitif, l'eau est sûrement dangereuse.

Remarque. — En règle générale les eaux alcalines, c'est-à-dire celles dans lesquelles le carbonate calcaïque domine,

se troublent si elles sont impures lorsqu'on les maintient à 41-42° en vase clos, mais il arrive que les eaux dites acides, qui tiennent en solution de la silice uni aux alcalis et relativement peu de sels calcaires, conservent la limpidité primitive. Ces eaux se reconnaissent facilement au degré hydrotimétrique peu élevé ; déjà avec l'eau de Saône qui titre 10°, le trouble est peu accentué, il est insignifiant avec celles dont le titre varie de 5 à 7°. Par suite de leur composition, ces eaux peuvent présenter des irrégularités mais on y obvie en ajoutant à l'eau quelques centigrammes de carbonate de chaux ; on sait d'ailleurs que ce sel favorise l'activité du coli.

FER ET ACIDE PHOSPHORIQUE

Ce qui caractérise le fer et l'acide phosphorique contenus dans les eaux potables, c'est qu'ils y sont occlus, c'est-à-dire unis à la matière organique constituant des ions complexes. Ces combinaisons expliquent la présence de l'oxyde de fer et de l'acide phosphorique dans un milieu qui renferme du carbonate de chaux ; elles donnent aussi la raison pour laquelle leur mise en évidence entraîne la destruction de la matière organique.

Parmi ces ions complexes, restes d'une combustion imparfaite de la molécule protéidique primitive, les uns sont azotés, d'autres sont dépourvus de cet élément, mais il sont combinés au fer et à l'acide phosphorique.

Recherche du fer au minimum et de l'acide phosphorique. — Pour précipiter le fer et l'acide phosphorique, j'ai

eu recours au chloromercurate de paramidobenzène sulfonate de sodium. Le bichlorure de mercure qu'il renferme est ici l'agent actif ; il agit comme oxydant sur les combinaisons ferreuses, il précipite le fer à l'état de sesquioxyde et l'acide phosphorique sous forme de phosphate de mercure insoluble ; si l'eau est impure, comme dans ces conditions le fer est au minimum, on obtient aussi du protochlorure de mercure. Un volume d'eau filtrée, variable de 2 à 3 litres, suivant les indications données par le dosage de l'azote organique, est additionné de 0 gr. 60 à 0 gr. 80 de chloromercurate par litre d'eau, on agite vivement, le sel se dissout en partie, mais bientôt la portion dissoute commence à se séparer et à troubler l'eau, qui ne redevient claire qu'après la précipitation du fer et de l'acide phosphorique ; cette séparation demande de vingt-quatre à trente-six heures, parfois davantage, suivant la qualité des eaux.

L'aspect du précipité est significatif ; si l'eau est pure et contient peu ou point de combinaisons ferreuses, il est blanc, cristallin, ressemblant au sel primitif ; dans le cas contraire il est caséux et grisâtre ; l'eau qui le surnage a pris une légère teinte brune, analogue à celle que lui communiquerait une trace de noir d'aniline.

Lorsque l'eau est éclaircie, on la décante, le précipité est reçu sur un filtre, lavé, puis entraîné dans un tube ; l'eau qui le baigne est séparée et remplacée par de l'acide chlorhydrique.

Si l'eau est pure, la dissolution est complète ; si elle est impure, il reste un précipité blanc, floconneux, de protochlorure de mercure, dont le volume dépend de la proportion d'oxyde ferreux que contenait l'eau.

Séparation du fer et de l'acide phosphorique. — Ces deux substances se trouvent dans la liqueur chlorhydrique ; elle est évaporée et desséchée à 115-120°, pour chasser l'excès d'acide chlorhydrique, le résidu est mélangé avec 1 gramme de carbonate de soude pur, sec et calciné ; la masse saline est après refroidissement arrosée avec quelques c.c. d'acide azotique ; le tout est évaporé au bain de sable, puis calciné pour détruire les nitrates et peroxyder le fer ; on laisse refroidir, on reprend par 20 à 25 c.c. d'eau, on filtre.

Ce traitement donne un résidu composé de sesquioxyde de fer qui reste sur le filtre, une liqueur qui contient l'acide phosphorique d'où on le sépare par le réactif nitromolybdique.

A cet effet, la solution est acidulée fortement par l'acide azotique et additionnée de son volume de réactif ; le mélange est porté dans un bain d'eau bouillante ; au bout de quelques minutes, on voit apparaître un trouble suivi d'un précipité de phosphomolybdate d'ammoniaque ; le tube où s'est produite la réaction est retiré, fermé avec un cornet de papier et abandonné au repos jusqu'à séparation complète du précipité. Le liquide est alors décanté, remplacé par de l'eau distillée ; on entraîne ensuite le phosphomolybdate sur un filtre où s'achève le lavage, on sèche et pèse. Le poids du précipité multiplié par le facteur 0,038 donne celui de l'acide phosphorique. Lorsque la quantité de phosphomolybdate le permet, on le transforme en phosphate ammoniacomagnésien. Le contenu du filtre est dissous dans le volume nécessaire d'eau ammoniacale au 1/3 ; à la solution, on ajoute quelques c.c. de mixture magnésienne. Le précipité de phosphate double qui s'est déposé, est transformé en pyrophosphate et pesé, ou bien titré avec la liqueur d'urane.

Le fer se trouve sur le filtre ; ce dernier est séché et calciné ; au résidu qui se compose de quelques grains de sesquioxyde on ajoute quelques cristaux de sulfate de potassium et 10 à 12 gouttes d'acide sulfurique ; on chauffe au rouge que l'on maintient jusqu'à élimination de l'excès d'acide. Le fer est alors sous forme de sulfate double de fer et de potassium ; on peut le doser directement avec la liqueur N/100° de permanganate; le plus souvent, la proportion est si faible qu'il est plus sûr d'employer la méthode colorimétrique, après suroxydation du fer par l'acide azotique ou l'eau de brome.

Le tableau suivant indique les quantités relatives de fer, d'acide phosphorique et d'azote organique, rapportées au litre, données par des eaux diverses.

	FER	ACIDE phospho- rique	AZOTE organique
	milligr.	milligr.	milligr.
Eau du Rhône (mai-juin 1903).	traces	traces	0,40
de Saône (mai-juin 1903).	0,1	0,1	1,28
— de source (terrain calcaire, septembre 1903)	0,3	0,1	»
— d'égout (fév.-mars 1903) .	4,0	3,0	4,16

De la comparaison des nombres inscrits dans les colonnes, il ressort que dans l'eau de Saône la contamination est présente, c'est-à-dire qu'il existe une certaine quantité de matière organique azotée, phosphorée et ferrugineuse, non transformée et probablement de l'ordre des nucléines ; sous

ce rapport, l'eau de Saône ressemble à l'eau d'égout fortement diluée ce qui est d'ailleurs conforme avec la rétrogradation des nitrates qui survient quand on maintient cette eau à 41-42° en vase clos pendant plusieurs heures, et l'analyse bactériologique qui a montré une quantité énorme de coli. Pour l'eau du Rhône et de la source, où la contamination est passée, au premier abord les résultats paraissent contradictoires ; dans un cas la proportion d'azote organique est nulle à côté d'une quantité appréciable de fer et d'acide phosphorique ; dans l'autre, c'est l'inverse qui a lieu. Ces faits sont la conséquence de l'origine différente de la matière organique. Les composés azotés forment la base des engrais ; lorsque le terrain est poreux, la séparation de l'azote et sa transformation en acide nitrique est à peu près intégrale ; de la nucléine primitive il ne reste qu'un squelette hydrocarboné qui retient le fer et l'acide phosphorique.

L'eau météorique qui lessivera cette terre en dissoudra une partie et l'entraînera dans la nappe, de là dans la source où on la retrouvera au moins à l'émergence. S'il s'agit d'un cours d'eau les phénomènes sont différents ; ici la matière organique apportée directement est en solution, l'action des divers ferments s'exerce dans un milieu homogène ; de ce fait elle est plus régulière, la combustion porte sur l'ensemble de la molécule ; en même temps que l'azote est détaché, le reste hydrocarboné de la nucléine est converti en eau et acide carbonique ; le fer et l'acide phosphorique sont libérés et précipités par le carbonate de chaux. Ainsi s'expliquent les résultats en apparence divergents fournis par l'eau du Rhône et celle d'une source placée en terrain calcaire fortement amendé pour lesquelles la contamination est cependant passée .

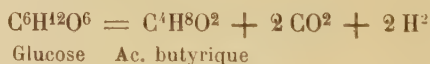
COMPOSÉS SULFURÉS

L'hydrogène sulfuré, les sulfures organiques sont des produits constants de la putréfaction des matières organiques ; leur présence dans l'eau est un signe de pollution. Toutefois, dans les eaux impures, le soufre est occlus, c'est-à-dire échappe aux réactions ordinaires de ce métalloïde.

Les sulfures organiques peuvent être considérés comme le résultat de la dislocation des matières albuminoïdes apportées par la contamination ou qui constituent le corps même des bactéries ; les sulfures minéraux, comme la conséquence de la réduction des sulfates, provoquée par la fermentation de certaines substances telles que la cellulose et l'amidon.

En fait, il est difficile de se prononcer ; on conçoit aisément qu'étant donnée une eau souillée par des eaux d'égout on puisse avoir la superposition de plusieurs réactions.

Lorsque la cellulose, en effet, entre en fermentation avec une matière organique azotée, elle-même fermentescible, par hydrolyse elle est amenée à l'état de glucose qui est à son tour converti en acide lactique, puis en acide butyrique avec dégagement d'hydrogène.



L'action de l'hydrogène naissant sur les sulfates contenus dans l'eau et particulièrement sur celui de calcium, le transforme en sulfure.

Les composés sulfurés organiques semblent être un produit de désassimilation des bactéries au moment où les conditions de leur vie deviennent pénibles.

Lorsqu'on fait vivre la levure de bière dans l'eau distillée à la température de 25°, c'est-à-dire lorsque cette cellule est condamnée à l'inactivité, elle n'assimile plus, elle se nourrit à ses dépens ; si l'on soumet cette levure à des traitements appropriés, on isole entre autres produits un composé remarquable entrevu par Hesse, étudié successivement par Pasteur, Béchamp et Schutzensberger, qui n'est autre qu'une leucine sulfurée, de constitution inconnue.

D'après Schutzensberger elle retient 4 p. 100 de soufre qui fait partie intégrante de la molécule.

Il est probable que cette propriété n'est pas spéciale à la levure ; d'autres ferments fabriquent dans des conditions qui nous sont pour la plupart inconnues, des composés sinon semblables, du moins voisins, ce qui expliquerait la présence dans les eaux impures d'un dérivé sulfuré qui possède les caractères de la cystine.

Les dérivés sulfurés une fois ne conservent leurs formes que dans des conditions particulières.

Lorsqu'une eau chargée de sulfures minéraux vient au contact de l'air l'acide carbonique les décompose ; en même temps se développent à la surface des sulfobactéries qui sont des aérobies manifestes, exigeant d'après Winogradski, outre l'oxygène, un composé sulfuré tout formé, comme l'acide sulfhydrique.

Sous la double influence de l'oxygène et de la bactérie, l'hydrogène sulfuré est décomposé, le soufre est absorbé par la bactérie, en partie emmagasiné comme aliment de réserve, en partie rejeté à l'état d'acide sulfurique.

Une autre portion subit une oxydation chimique qui engendre plusieurs dérivés sulfurés. Le sulfure de calcium provenant de la réduction du sulfate, sous l'influence de l'oxygène de l'air et de l'acide carbonique, donne d'abord un polysulfure et du carbonate de calcium ; le polysulfure par une oxydation plus profonde est converti en sulfate, qui termine le cycle des métamorphoses.

De sorte que dans une eau contaminée on pourra rencontrer de l'hydrogène sulfuré libre, des sulfures minéraux plus ou moins altérés, par conséquent des hyposulfites, des sulfures organiques, produits d'altération de la cellule microbienne elle-même.

Dans tous les cas, la présence de semblables composés est corrélative de la vie anaérobie et d'une teneur élevée de l'eau en matière organique. Aussi on les trouve particulièrement dans les eaux d'égout et celles qu'elles ont souillées, dans les puits peu profonds qui reçoivent souvent des eaux de surface, incomplètement débarrassées des produits nuisibles par une filtration efficace à travers le sol.

Recherche qualitative des composés sulfurés. — Lorsqu'une eau contient de l'hydrogène sulfuré, ou du sulfure de fer ; elle présente certains caractères qui rendent superflues les recherches ultérieures.

L'odeur spéciale de l'hydrogène sulfuré, perceptible à l'état de traces, la saveur de l'eau, son aspect trouble, suffisent largement pour la faire rejeter de la consommation. Il en est de même lorsqu'elle tient en suspension du sulfure de fer, qui donne à l'eau un aspect repoussant. Sous ces formes, le soufre est facile à reconnaître, mais il n'en est plus de même lorsque le métalloïde est engagé dans une

combinaison minérale, comme l'hyposulfite de calcium, ou organique, comme les amides sulfurées. Déjà dans l'hyposulfite, le soufre est occlus, la mise en évidence du métal-loïde exige la décomposition de la molécule primitive qui d'ailleurs est réalisée par les sels d'argent à chaud. Il en est de même pour les sulfures organiques, qui se forment dans les fermentations putrides et des amides sulfurées, du genre de la leucine que nous avons signalée.

Nous ne nous occuperons ici que du soufre occlus et non décelable par les réactifs ordinaires des sulfures.

Dans une note insérée aux Comptes Rendus de l'Académie des sciences de 1900, j'ai décrit les caractères des eaux contenant des sulfures, leurs propriétés vis-à-vis des réactifs colorés, et deux méthodes pour séparer le soufre ou les composés sulfurés.

La première consistait à distiller l'eau sous pression réduite ; le soufre mis en liberté était caractérisé par le produit de la distillation.

La seconde comportait la précipitation de la matière organique par le réactif barytique, la reprise du précipité par du carbonate potassique au 1/100^e, et l'examen microscopique du résidu de l'évaporation de cette solution, préalablement acidulée par l'acide acétique.

La présence des composés sulfurés était décelée par l'aspect des cristaux, qui affectent les formes hexagonales de la cystine et partagent ses propriétés.

Ces procédés qui nécessitaient la mise en œuvre d'un volume d'eau notable, ont été simplifiés ; l'un d'eux, celui au chlorure d'argent ammoniacal rappelle les méthodes colorimétriques qui ont été décrites dans les pages précédentes.

Recherche des composés sulfurés par le chlorure d'argent ammoniacal. — Cette méthode repose sur ce fait qu'en solution ammoniacale, un sel d'argent, mis au contact d'un sulfure, donne du sulfure d'argent insoluble dans l'ammoniaque.

Tous les sels d'argent ne se prêtent pas à une double décomposition facile en présence de faibles quantités de dérivés sulfurés en solution très étendue, le nitrate, par exemple, donne des résultats variables, ce qui tient sans doute à l'oxydation d'une partie du soufre, tandis que le chlorure offre une action régulière qui nous a fait adopter cette combinaison.

La recherche comporte la préparation du réactif que l'on obtient facilement comme il suit.

Solution ammoniacale de chlorure d'argent ammoniacal. — Dans un volume quelconque d'une solution d'azotate d'argent, on verse de l'acide chlorhydrique étendu, jusqu'à cessation de précipité, puis un excès. Le mélange est agité, le chlorure d'argent formé se réunit rapidement. On décante l'eau-mère, on lave le chlorure à l'eau distillée ; après avoir enlevé l'eau de lavage, on verse de l'ammoniaque à 22° étendue de son volume d'eau, jusqu'à dissolution du précipité.

Toutes ces opérations doivent être faites à la lumière du gaz où à l'abri des rayons solaires directs ; le réactif lui-même sera conservé dans l'obscurité.

Pratique de la recherche. — On filtre soigneusement sur un double filtre 150 c.c. d'eau environ, que l'on divise en deux parties.

L'une est souillée par addition d'eau d'égout ou de tout autre liquide putréfié ; on garnit ensuite avec ces deux échantillons deux tubes de 60 c.c. de capacité, A et B.

A reçoit l'eau à analyser, B l'eau souillée. On ajoute à chacun 5 c.c. de réactif, on mélange ; à froid, on n'obtient généralement aucune modification de l'aspect des tubes. On les porte dans un bain-marie chauffé vers 80° ; s'il n'est pas dans un endroit obscur, on entoure les tubes d'une enveloppe opaque.

Tout d'abord l'action de la chaleur ne provoque aucun changement, excepté toutefois un trouble blanc dû à la séparation du carbonate calcique ; mais si l'on retire les tubes après trente ou trente-cinq minutes de chauffe, B aura pris une teinte jaune brun plus ou moins accentuée, accompagnée par un précipité de même couleur. Quant au tube A, ou bien il sera coloré, ou il ne se sera pas produit de coloration ; d'où deux cas à distinguer.

Premier cas. — Le tube A, examiné suivant l'axe, ne présente qu'un trouble blanc sans trace de brun ou de jaune ; le précipité cristallin est incolore, on en conclut que l'eau est exempte de sulfures minéraux ou organiques.

Deuxième cas. — Il s'est développé une teinte brune d'intensité variable, suivie d'un précipité de même couleur ; l'eau contenait des sulfures minéraux et organiques ; elle doit être tenue pour suspecte et contaminée par les eaux d'égout ou les infiltrations de fosses d'aisances. En même temps que l'on aura observé la coloration, l'eau présentera d'autres caractères également significatifs tels que réaction positive au chloromercurate de paramidobenzène, négative au violet sulfureux ; l'azote albuminoïde dépassera la

moyenne et l'on constatera la présence des sels ferreux et de l'acide phosphorique en proportion notable.

Tous ces faits établissent la valeur de l'eau et permettent de la classer. Lorsque la proportion de sulfure est faible, le liquide se clarifie rapidement; il présente une légère fluorescence verte; le précipité est rarement brun mais affecte une teinte jaunâtre.

Si la proportion de sulfure est relativement forte, bien que l'eau ne possède nullement l'odeur hépatique, le précipité est brun, la liqueur est trouble, et se clarifie péniblement.

Recherche des composés sulfurés, après chauffage de l'eau. — Le procédé qui a été employé est calqué sur celui qui a été décrit pour le réactif au chloromercurate de paramidobenzène.

On filtre sur un double filtre 200 c.c. d'eau que l'on répartit dans deux flacons bouchant à l'émeri ; l'un des échantillons est souillé, le tout est porté à l'étuve chauffée à 40-41° ; au bout de quarante-huit heures on filtre 50 c.c. de chacun des liquides dans deux tubes A et B ; on ajoute 3 c.c. de chlorure d'argent ammoniacal et l'on conduit le reste de l'opération comme il a été dit ci-dessus. Les eaux pures n'éprouvent aucune modification, les eaux impures se colorent en brun plus ou moins foncé ; elles abandonnent un dépôt de sulfure d'argent de volume variable.

Méthode par précipitation. — A un volume d'eau filtrée qui peut varier d'un à quelques litres, on ajoute pour chaque litre 20 c.c. de réactif barytique, on ferme le vase, on agite, on abandonne au repos ; lorsque le liquide est clair et le précipité réuni, ce qui demande de douze à quatorze heures, on le soutire.

L'eau-mère décantée est remplacée par de l'eau distillée qui est à son tour enlevée après séparation du précipité ; on procède ensuite à la distillation.

Le dépôt est introduit dans un ballon à long col, portant la tubulure près de l'orifice que l'on ferme avec un bouchon traversé par un tube effilé à l'une de ses extrémités, tandis que l'autre est munie d'un caoutchouc garni d'une pince pour régler la rentrée d'air. La tubulure s'engage dans le col d'un autre ballon semblable, qui fait fonction de réfrigérant ; il repose dans un entonnoir où il est continuellement arrosé par un filet d'eau assez abondant pour condenser les vapeurs. Sur le précipité on verse de l'acide phosphorique au $1/4$, pour neutraliser les bases, déplacer la baryte et acidifier fortement le liquide, puis 20 c.c. d'alun de fer au $1/5^{\circ}$. On distille dans le vide, après avoir réglé la rentrée d'air qui doit être suffisante pour maintenir une dépression notable à l'intérieur de l'appareil. On recueille d'abord 25 c.c. de liquide, on laisse refroidir, on procède à une seconde distillation pour obtenir un total de 50 c.c. en produit distillé.

Sur le liquide distillé divisé en trois parties on effectue les réactions suivantes.

A une portion on ajoute avec ménagement du sous-acétate de plomb, une ou deux gouttes, le précipité étant soluble dans un excès de réactif. Les eaux pures se comportent comme l'eau distillée et ne donnent ni trouble ni précipité ; ce cas est rare, le plus souvent on obtient un trouble formé par des cristaux microscopiques en suspension.

L'aspect et l'abondance du précipité sont significatifs ; les eaux d'une pureté moyenne en matières organiques donnent un léger trouble ; les eaux souillées par les liquides

des déjections humaines ou animales fournissent un précipité plus ou moins abondant ; tantôt il est cristallin, tantôt il paraît amorphe et caséeux ; dans ce dernier cas le liquide distillé exhale une odeur assez prononcée de mercaptan.

D'une manière générale, l'apparition d'un trouble ou d'un précipité est fonction de la teneur de l'eau en matière organique.

On laisse le liquide s'éclaircir et le précipité se réunir au fond du vase, on décante, on lave le précipité à l'eau distillée, et on l'examine au microscope.

Avec les eaux pures la forme est indécise, le dépôt se compose de petits grains cristallins.

Si l'eau est impure et contient des composés sulfurés outre les grains cités, on aperçoit des plaques hexagonales d'une grande régularité, tantôt seules, tantôt imbriquées les unes sur les autres, et analogues aux cristallisations de cystine.

La seconde portion du liquide est divisée en deux parties : l'une est additionnée de quelques gouttes de nitrate d'argent ; à froid et immédiatement on obtient avec les eaux pures un liquide incolore ; avec les eaux souillées, il se développe une très légère teinte brune visible suivant l'axe ; le liquide est ensuite chauffé au bain-marie ; si l'eau est pure on ne constate aucun changement, mais si elle renferme des composés sulfurés, la teinte brune du début s'accentuera et après vingt-quatre heures de dépôt au fond du tube, on observera quelques flocons noirs de sulfure d'argent. A la troisième partie on ajoute du nitrate d'argent et de l'ammoniaque avec précaution ; si l'eau est fortement souillée par des eaux de surface, comme cela arrive pour les puits peu profonds, ou des liquides des déjections humaines, l'ammo-

niaque produit un précipité jaune ; cette réaction a été indiquée comme un signe de la présence de la cystine. Ce procédé de recherche des composés sulfurés est d'une sensibilité remarquable, si, par la pratique, on a appris à juger de la signification du trouble produit par le sous-acétate de plomb, on possède une base qui facilite beaucoup les conclusions de l'analyse.

Observations sur la présence des composés sulfurés. — La constatation des plaques hexagonales d'une part, d'autre part celle du sulfure d'argent constituent des preuves suffisantes de la présence des composés sulfurés ; seules les eaux souillées par les déjections humaines ou animales, les produits de la désassimilation bactérienne donnent de semblables réactions.

Relations des composés sulfurés avec les réactifs colorés. — Les eaux qui en renferment donnent la réaction négative avec le violet sulfureux, positive avec le paradiabenzène sulfonate de sodium.

Relations avec les saisons. — Dans les eaux polluées et pour les raisons que nous avons développées, on n'observe les réactions des sulfures et dérivés sulfurés qu'en été ; la proportion est maximum en octobre, c'est-à-dire à la fin de l'été ; les eaux même moyennement chargées en matières organiques peuvent en contenir à cette époque de l'année.

La présence des composés sulfurés est intimement liée à la température, c'est surtout dans les réservoirs placés dans les combles des bâtiments ou des appartements qu'ils prennent particulièrement naissance.

Leur apparition est alors très rapide et en relation non

seulement avec l'élévation de la température ambiante, mais aussi avec les variations barométriques.

Les eaux des puits profonds alimentés par des eaux de source renferment rarement des composés sulfurés, mais s'ils sont riches en matières organiques, ce qui est le cas général, au moins à la campagne où les puits sont ouverts et où l'eau est puisée avec des seaux souvent malpropres, elles s'altèrent rapidement en dehors du puits, elles perdent leur propriété de recolorer le violet sulfureux ; par contre elles donnent avec le paramidobenzène la réaction positive ; en même temps se développent les composés sulfurés. Dans les puits peu profonds, ou même profonds creusés dans un terrain d'alluvion comme on en trouve beaucoup dans les vallées, la proportion de sulfures organiques est parfois très élevée en été ; il est nécessaire de les nettoyer fréquemment, autrement l'eau prend l'odeur de croupi, d'abord, puis il se forme du sulfure de fer et elle devient imbuvable. Des faits analogues surviennent dans des puits de la plaine des Brotteaux et de Monplaisir à Lyon ; vers le mois de septembre l'eau de ces puits qui souvent est très-dure, 80 et même 100° hydrotimétriques, contient assez de composés sulfurés pour abandonner du soufre par simple distillation dans le vide. J'ai suivi pendant une année les fluctuations que présente l'eau du Rhône ; en temps ordinaire, le trouble produit par le sous-acétate de plomb est insignifiant, mais à la suite des orages il prend des proportions appréciables ; il en est de même pour le nitrate d'argent. En été, lorsque le niveau du fleuve est bas, on obtient manifestement quelques plaques hexagonales, et une trace de sulfure d'argent ; ces réactions disparaissent d'ailleurs à l'entrée de l'hiver et lorsque le fleuve reprend son débit normal.

ACIDES GRAS

Les origines des acides gras qui se trouvent dans les eaux contaminées sont nombreuses ; ils proviennent de l'apport direct des eaux d'égout et ménagères, des infiltrations de toute nature, des eaux résiduelles de certaines industries telles que les blanchisseries et les stéarineries et les fabriques de margarine.

Ils représentent en outre un produit constant du dédoublement des matières albuminoïdes sous l'influence de la vie bactérienne (A. Gautier).

La molécule albuminoïde primitive par hydrolyse et oxydation se trouve ramenée à des cristalloïdes plus simples, représentés pour la série grasse par la leucine, indépendamment des homologues supérieurs ou inférieurs qui prennent naissance pendant le dédoublement.

La leucine ou acide amido-caproïque $C^4H^3 \begin{matrix} \swarrow CO^3H \\ \searrow CH.AzH^2 \end{matrix}$, par perte de l'amidogène AzH^2 , laisse de l'acide caproïque ; par une réaction semblable, les autres dérivés sont susceptibles de former un mélange complexe d'acides gras, ce qui explique l'aspect peu homogène qu'offre la substance organique cristallisée extraite des eaux.

La présence de semblables composés dans l'eau lui donne des propriétés particulières. Schlœsing avait observé que certaines eaux, même potables, abandonnaient peu ou point de carbonate calcaïque par l'ébullition et que dans tous les cas le dépôt était fonction de la teneur de l'eau en matières organiques.

A. Gautier avait fait de son côté la remarque que la somme de la chaux et de la magnésie est dans beaucoup de cas supérieure à celle qu'exige la saturation des acides carbonique, chlorhydrique, sulfurique, nitrique, qu'elles contiennent normalement.

On avait aussi signalé dans ces derniers temps à plusieurs reprises que des métaux comme le fer, qui existe parfois en abondance dans les eaux y étaient occlus, c'est-à-dire échappaient aux réactions ordinaires qui n'étaient obtenues qu'après destruction de la combinaison.

Ces faits en apparence anormaux s'expliquent par la présence des acides organiques. Leurs combinaisons calcaires résistent à l'ébullition ; en dehors des sels normaux, leur présence augmente leur teneur en chaux et magnésie. Probablement doués de fonctions mixtes, ils forment des combinaisons avec la chaux et la magnésie, du genre des émétiques, et le métal proprement dit nous paraît occlus, étant insensible aux réactifs généraux de ces éléments.

Extraction des acides gras. — Les acides gras ont été extraits de l'eau en mettant à profit l'insolubilité des combinaisons barytiques que l'on transforme en sels sodiques correspondants, d'où l'on dégage les acides gras comme il sera dit.

Le liquide alcalin B, qui résulte du traitement décrit aux procédés généraux d'extraction de la matière organique, est concentré, acidulé par l'acide sulfurique et épuisé à plusieurs reprises par le chloroforme pur.

L'évaporation du solvant laisse une masse cristalline ; elle reste dissoute dans quelques centimètres cubes de chloroforme que l'on volatilise à une douce chaleur dans un

verre de montre taré ; après un séjour de plusieurs heures dans la cloche à dessiccation, on pèse ; la différence de poids donne celui des acides gras.

On obtient ainsi un résidu cristallin d'aspect jaune vu sous une certaine épaisseur. Examiné au microscope, il est composé d'aiguilles groupées en un double faisceau relié par une extrémité, analogue aux cristallisations de beurre rance ou d'acides des graisses.

Il fond à basse température 40-50° ; sous l'influence de la chaleur, une partie est volatisée ; il reste une substance blanche en prismes très nets. Il est certain qu'il ne s'agit pas d'un corps unique mais d'un mélange d'acides ; que ceux-ci proviennent des eaux ménagères ou du dédoublement des substances albuminoïdes ; dans ce dernier cas, l'hydrolyse suivie du départ de l'azote à l'état d'ammoniaque laisse un représentant des diverses étapes parcourues par la molécule albuminoïde primitive. La proportion d'acides gras est variable avec les causes de contamination. Les eaux de puits sont en général plus riches que celles des fleuves et des rivières, pour lesquelles la teneur est fonction tout à la fois du niveau et de la température.

Le maximum de pureté a lieu au printemps, lorsque les eaux sont abondantes et que la température est favorable aux oxydases.

Le Rhône fournit en hiver une moyenne de 0 milligr. 06 ; en été, lorsque le fleuve est très bas, jusqu'à 0 milligr. 10 et au printemps de 0 milligr. 02 à 0 milligr 03 au litre.

Relations des acides gras avec la contamination. — Les acides gras ne sont pas nuisibles par eux-mêmes bien que leur origine soit intimement liée à la présence de la

matière organique. Ils semblent un principe aussi constant dans l'eau que le chlorure de sodium ; il est même probable que leur proportion doit suivre de près celle des chlorures, augmenter avec le nombre d'habitants et l'intensité de la culture. En effet d'après un rapport du comité d'hygiène du Massachussets la réunion de trente personnes sur un mille carré détermine une augmentation de 0 milligr. 1 de chlore par million de litres dans les cours d'eau voisins. Comme cette augmentation est assurément apportée par les eaux d'égouts ou ménagères, on peut en conclure que la quantité d'acides organiques augmente avec les agglomérations humaines. On ne peut donc espérer trouver une eau sans acides gras et les relations qui existent entre les qualités de l'eau et sa teneur en acides sont faciles à concevoir.

Des recherches dirigées dans ce sens ont montré qu'étant donnée une eau chargée en acides gras elle ne devient inactive au violet sulfureux qu'autant qu'elle est soumise à des variations de température.

Si la température reste constante toujours aux environs de 9°, la présence des acides gras n'est pas un obstacle à la recoloration du violet sulfureux, mais si l'eau subit des variations de température, la vie bactérienne change et en même temps les qualités de l'eau. Si l'on choisit une eau de puits profond et de pureté moyenne dont la température est basse, au voisinage de 9°, l'eau possèdera les qualités des eaux potables ; mais si l'on envoie la même eau dans un réservoir qui subit les influences de la température ambiante et qui bien souvent se trouve dans des endroits clos on constatera qu'elle diffère de celle du puits et que la proportion d'acides gras a augmenté, en même temps que son action sur les réactifs colorés a varié.

En résumé, les acides gras se trouvent dans les eaux potables unis aux sels de chaux et de magnésie ; leur présence augmente la dureté de l'eau ; lorsqu'elle atteint une certaine limite, l'eau perd la propriété caractéristique des eaux pures et possède les réactions des eaux impures

CONCLUSIONS

Les eaux contiennent un ensemble de microorganismes appartenant aux groupes des aérobies et des anaréobies, mais le nombre de ceux dont la fonction reste fixe est très restreint ; la plupart apparaissent comme des facultatifs pouvant jouer alternativement l'un et l'autre rôle, suivant la température ambiante qui devient indirectement le régulateur de l'infection ou de la purification des eaux. Si l'on se reporte aux indications fournies par les réactions colorées, on constate que la vie aérobie domine aussi longtemps que la température de l'eau est égale ou inférieure à 9° ; alors même qu'elle contient une proportion anormale de matières organiques, les dites réactions n'accusent pas la présence des produits de la putréfaction, parce qu'ils disparaissent par combustion régulière. La contamination est dans ces conditions passée, les composants de la molécule organique primitive se trouvent sous leurs formes minérales initiales, eau, acides carbonique, nitrique, sulfurique, unis à la chaux ; quant à l'oxyde de fer et à l'acide phosphorique, séparés et libres, ils sont précipités par le carbonate de calcium. Cet état se manifeste par l'ensemble des réactions suivantes.

L'eau recolore le violet de méthyle sulfureux, la réaction au chloromercurate de paramidobenzène, et au chlorure ammoniacal d'argent est négative. L'azote organique est au-dessous de la moyenne, l'ammoniaque libre fait défaut où n'existe qu'en petite quantité, ainsi que le fer et l'acide phosphorique, les acides gras se rencontrent à l'état de traces. Sous l'influence de la chaleur, les nitrates subissent une rétrogradation insignifiante qui donne lieu à une augmentation d'azote organique du même ordre.

Tels sont les caractères d'une eau pure, ou d'une eau débarrassée par une sorte d'auto-purification des produits de la putréfaction.

Lorsque la température de l'eau subit des variations et qu'elle s'élève, la vie aérobie fait place à l'anaérobie, la combustion de la matière organique subit un temps d'arrêt qui laisse persister les produits de la dislocation diastasique; l'eau est infectée, la contamination est présente.

Cette période est caractérisée par l'inertie de l'eau sur le violet, par son activité sur le chloromercurate, sur le chlorure d'argent ammoniacal. La proportion d'azote organique est élevée ; on trouve dans l'eau, du fer, de l'acide phosphorique en quantité appréciable, de l'ammoniaque libre, des composés sulfurés, des acides gras.

Si l'on soumet l'eau à l'action de la chaleur on observera la rétrogradation des nitrates, l'augmentation notable de l'azote organique.

Tous ces faits ne laissent aucun doute sur les qualités médiocres ou mauvaises d'une eau ; ils permettent de tirer des conclusions et montrent pourquoi une eau de pureté organique moyenne qui reste potable l'hiver et le printemps, peut devenir nuisible en été ou lorsqu'elle est soumise à une

élévation de température, ainsi que la relation constante qui existe entre l'éclosion des épidémies d'origine hydrique, telles que la fièvre typhoïde, et les saisons.

C'est également la raison pour laquelle l'essai d'une eau doit toujours être comparatif c'est-à-dire fait à froid et après un séjour à l'étuve chauffée à 44-42°.

Si l'eau supporte cette épreuve sans présenter les réactions de la contamination où des variations dans la composition, elle offre par cela même une grande garantie, sa valeur hygiénique en découle ; mais si un changement survient, l'eau doit être suspectée ou tout au moins doit faire l'objet d'une étude attentive et suivie.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

LÉPINE.

Vu :

LE DOYEN,

LORTET.

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE,

Président du Conseil de l'Université,

G. COMPAYRÉ

•

•

LYON

IMPRIMERIE A. STORCK ET C^{ie}

Rue de la Méditerranée, 8

